DES

N° 503

ANTISEPTIQUES

DANS LES SOLUTIONS D'ATROPINE

THÈSE

Présentée à l'École supérieure de Pharmacie de Montpellier

le 11 décembre 1891

PAR

Emmanuel BRIGANDAT

Né à Paris

Pour obtenir le grade de Pharmacien de 1re classe

MONTPELLIER

IMPRIMERIE SERRE ET RICOME, RUE VIEILLE-INTENDANCE, 5

1891

Ecole Supérieure de Pharmacie de Montpellier.

PROFESSEURS

MM. J.E DIACON (I. P. ✿), DIRECTEUR. — *Chimie générale*

F. JEANJEAN (I. P. ✿)..... — *Chimie analytique et Toxicologie.*

L. SOUBEIRAN ✠✠✠✠..... — *Pharmacie.*

L. COURCHET (A. ✿)..... — *Histoire naturelle des médicaments. Botanique.*

N..... — *Physique*

COURS COMPLÉMENTAIRES ET AUXILIAIRES

MM. COURCHET, professeur..... — *Organographie.*

MASSOL, chargé du cours..... — *Physique.*

GAY, agrégé, chargé du cours... — *Matière médicale.*

ASTRE, chargé du cours..... — *Chimie minérale.*

GAY, agrégé..... — *Pharmacie galénique.*

IMBERT, chargé du cours..... — *Minéralogie et Hydrologie.*

AGRÉGÉS

MM. G. MASSOL (A. ✿).

F. GAY. (A. ✿).

C. ASTRE (A. ✿), chargé des fonctions.

Secrétaire : H. GOT (I. P. ✿).

Secrétaire honoraire: F.-J. BLAISE (I. P. ✿).

NOTA.— L'Ecole de pharmacie n'accepte la responsabilité d'aucune des opinions émises par les candidats, dans les Thèses ou Synthèses qui lui sont présentées.

A MON ÉPOUSE

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

A MA SŒUR

A ma Tante M^me^ Veuve GOUDAL

A mon Cousin M. DUPRÉ-GOUDAL, notaire
à Saint-Amand (Cher)

A mon Beau-Père M. Léon REPELLIN,
Conducteur principal des Ponts et Chaussées de l'Isère

A Monsieur le Docteur NICATI
Médecin à Marseille

BRIGANDAT

A mon Maître, Monsieur RIETSCH

Professeur de chimie et de bactériologie à l'Ecole de médecine de Marseille

A MM. les Professeurs de l'Ecole supérieure de Pharmacie de Montpellier

A Messieurs ANDRÉ et LIEUTIER

Pharmaciens de 1re classe à Marseille

Au Révérend Jean LE BRUN et à Mme Louise LE BRUN

A Port-Louis (Ile Maurice)

A mon Ami Ex. NICOLAS

Négociant en soieries à Lyon

A Monsieur Casimir SIPRIOT

Propriétaire à Marseille

MEIS ET AMICIS

BRIGANDAT

DES

ANTISEPTIQUES

DANS LES SOLUTIONS D'ATROPINE

INTRODUCTION

Au moment où l'attention du monde médical et pharmaceutique est fixé sur les agents de conservation ou antiseptiques, il m'a paru intéressant de faire quelques recherches sur ces agents et d'essayer de préciser leur rôle dans les solutions d'alcaloïdes et notamment dans celles de sulfate neutre d'atropine.

D'un autre côté, je ne me faisais aucune illusion sur les difficultés de ces recherches. Mais les encouragements de M. le professeur Rietsch et M. le Dr Nicati ont triomphé de mes appréhensions, et je me suis mis à l'œuvre avec confiance et persévérance.

Ce travail, pour lequel je sollicite l'indulgence de mes Juges, n'est que l'exposé fidèle des faits que j'ai observés et des résultats que j'ai obtenus.

Avant de pénétrer dans le sujet de mes recherches, je tiens à exprimer à M. le professeur Rietsch et à M. le Dr Nicati ma profonde reconnaissance ; à M. Rietsch, pour la bienveillance avec laquelle il m'a toujours accueilli dans son laboratoire de bactériologie et a guidé mes recherches de ses conseils et de son expérience ; à M. Nicati, pour la sympathie et les encouragements qu'il m'a toujours prodigués, et les essais qu'il a bien voulu faire dans sa clinique ophtalmologique.

Tous les médecins et pharmaciens savent, par expérience, que les solutions d'alcaloïdes, quelque soin qu'on y apporte et malgré l'emploi de produits chimiquement purs, se conservent mal. Après un temps plus ou moins long, selon les saisons, il s'y développe des végétations plus ou moins abondantes, dues à des microzoaires, des algues, des diatomées, des amibes, des champignons et quelquefois des bactéries pathogènes.

Un fait digne de remarque et bien connu, c'est qu'il arrive quelquefois que, dans les solutions arsenicales de Fowler, de Pearson et autres, préparées longtemps à l'avance et conservées dans des flacons exposés à la lumière, il se manifeste une altération qui consiste dans le développement de points bruns ou noirs, constitués d'après M. Léon Marchand, le savant professeur de pharmacie à l'Ecole supérieure de Paris, par un petit champignon de la tribu des Dématiées (*l'Hygrococcis arsenicus*), végétal qui jouit de la propriété curieuse de vivre et de se développer dans un milieu mortel pour tous les êtres vivants.

Si les végétations se produisent dans les solutions arsenicales, à plus forte raison elles se produiront et se développeront dans des solutions d'alcaloïdes, corps facilement décomposables et perdant une partie de leurs propriétés thérapeutiques par ce seul fait.

Lorsque ces végétations se produisent, c'est au détriment de l'alcaloïde. Ainsi, étant donnée une solution contenant 0,05 centigr. de sulfate neutre d'atropine avec 10 gr. d'eau distillée, il se manifestera, après un laps de temps plus ou moins long, des végétations en plus ou moins grande abondance ; quelquefois même, des bactéries s'y développeront, ainsi que je l'ai observé plusieurs fois. Si on filtre cette solution sur un filtre préalablement taré et stérilisé, et si on fait évaporer la solution filtrée dans une capsule de platine et qu'on pèse le résidu ainsi que le filtre desséché à l'étuve à 50°, on constatera que la solution qui contenait primitivement 0,05/10 gr. de sulfate neutre d'atropine, n'en contient plus que 0,04, 0,03, et même moins de l'alcaloïde employé.

J'ai fait cinq solutions de sulfate neutre d'atropine à des époques différentes. Chacune contenait 0,05/10 gr. ; elles ont été marquées des lettres A, B, C, D, E.

Les solutions ont été préparées :

A. 29 novembre 1890.
B. 6 janvier 1891.
C. 18 février 1891.
D. 3 mars 1891.
E. 4 avril 1891.

Ces diverses solutions m'ont donné, le 21 mai 1891, les résultats suivants, après filtration, évaporation, dessiccation et pesage du résidu.

A. 0,027 milligrammes.
B. 0,031 —
C. 0,037 —
D. 0,041 —
E. 0,044 —

d'où une perte de principe actif pour :

A. 0,023 milligrammes.
B. 0,019 —
C. 0,013 —
D. 0,009 —
E. 0,006

Aussi qu'arrive-t-il ? C'est que le médecin qui a formulé une préparation avec une dose déterminée se trouve en présence d'un médicament qui a perdu l'énergie sur laquelle il comptait. Encore s'estime-t-il heureux quand, par l'application de collyres tels que ceux portant les lettres A et B, dans lesquels se trouvaient des bactéries pathogènes, il ne survient pas d'accident grave dû à l'emploi d'un médicament contaminé.

En présence de ces résultats, quels moyens à employer pour empêcher ce développement de végétations, ou tout au moins pour le retarder? Trois considérations doivent guider le praticien dans le choix des moyens à employer: la puissance d'action en premier lieu, ensuite la facilité de l'emploi et en dernier lieu le côté pratique.

Plusieurs moyens se présentent à mon attention ; je citerai tout d'abord la stérilisation et en second lieu les antiseptiques.

Je ne traiterai pas de la stérilisation, quoique ce moyen soit le plus efficace. Ce procédé ne remplit pas entièrement le but que je recherche. Si sa puissance d'action est réelle, la facilité de son emploi et son côté pratique laissent à désirer. Ce procédé suppose un laboratoire garni d'appareils coûteux et délicats, ce qui est impossible de réaliser dans la pratique journalière. La stérilisation par la chaleur pourrait tout de même s'effectuer en chauffant les solutions au bain-marie à 100° ; mais ce procédé à des inconvénients, c'est qu'il y a

des alcaloïdes qui s'altèrent au contact de la chaleur ; les *antiseptiques* me paraissent préférables.

On entend par *antiseptiques*, des substances qui ont pour principal but d'entraver et même d'arrêter le développement des microorganismes dans un milieu propice inerte. Ces substances sont nombreuses, il est impossible de les étudier toutes. Quelques-unes telles que le bichlorure de mercure, la glycérine remplissent ce but et sont usitées depuis longtemps ; à côté il y a place pour l'acide phénique et quelques dérivés du phénol : le thymol, la résorcine, l'acide salicylique, la créoline, les violets de méthyle ou pyoctanine de Merck. J'étudierai successivement chacun de ces produits, et constaterai leur valeur en tant qu'ils empêcheront, ou tout au moins qu'ils retarderont le développement des végétations dans les solutions de sulfate neutre d'atropine, d'un emploi courant en opthalmologie. J'essayerai d'étudier ces végétations, en employant la méthode des cultures créée par Pasteur et qui permet de faire reproduire dans des substances appropriées, telles que bouillons, gélatine, gélose, pulpes végétales, etc., les divers microbes, ferments que l'on veut étudier. Pour rendre ce phénomène apparent et le suivre dans les diverses périodes, j'ai employé une solution de gélatine pour mes premières expériences et de gélose pour mes essais en été ; les solutions ont été peptonisées, rendues aussi neutres que possible et suffisamment concentrées, pour qu'en se refroidissant dans les tubes ou sur des plaques de verre, elles se prissent en gelée. Dans ces conditions, les bactéries, les champignons, les algues se développent d'une façon remarquable ; chaque champignon ou moisissure, chaque bactérie se multiplie à l'infini, et, au bout d'un temps plus ou moins long, a élargi son centre d'action, qui devient perceptible à

l'œil nu sous la forme d'un point blanchâtre, qui s'accroît et forme une petite sphère opaque ou colonie.

Mon but a été de rechercher l'antiseptique qui assurerait le mieux la conservation des solutions d'atropine, sans déterminer sur l'œil du patient une sensation douloureuse. Mais avant d'étudier ces antiseptiques, je dirai quelques mots sur l'origine des végétations dans les solutions d'alcaloïdes.

DE L'ORIGINE DES VÉGÉTATIONS

Ces végétations ont pour véhicule l'eau distillée employée pour dissoudre le sulfate d'atropine, l'alcaloïde lui-même, les filtres, les flacons et les mortiers employés. Quelques pharmaciens peu scrupuleux emploient l'eau ordinaire, qui est toujours plus contaminée. On sait que les eaux contiennent toutes des organismes provenant de l'air, des vases dans lesquels on les a conservées. Quels sont en général ces organismes ? Ce sont des champignons, des algues, des bactéries. L'abondance de ces différents organismes, leurs caractères morphologiques, leur couleur, constituent d'excellents indices pour juger de l'état de conservation de la solution.

Nœgeli, qui s'est beaucoup occupé de ces végétations, les a divisées en trois groupes principaux :

1° Les Moisissures caractérisées par des filaments ramifiés, segmentés ou non, et formés par des plantes appartenant aux genres : Penicillium, Aspergillus, Mucor, etc.

2° Les Saccharomycètes, constitués par de petites cellules de formes diverses, qui se multiplient au moyen de bourgeons se développant à leur surface.

Les Bactéries ou Schizomycètes, petits corps sphériques ou cylindriques qui se multiplient par scission seulement, qui quelquefois restent isolés et quelquefois forment des rangées (bâtonnets, filaments), etc., et ne prennent que rarement l'aspect de masses cubiques. A ce groupe appartiennent les formes qu'on range dans les genres : Micrococcus, Bacte-

rium, Bacillus, Spirillum; à ces végétaux, il faut joindre des formes mal connues, signalées, dès 1832, par Biasoletto sous le nom d'Hygrococcis et décrites par Kützing, Bory de Saint-Vincent, Marchand. Ces hygrococcis affectent les formes les plus variées et n'ont, comme organes reproducteurs, que de simples conidies. Ces champignons, de couleur pâle lorqu'ils commencent à se développer, prennent, avec le temps, des teintes plus ou moins foncées, ils sont alors tantôt épais et denses, tantôt opalins et comme visqueux, tantôt teintés de noir et plus en plus compacts; ils flottent au sein du liquide ou se déposent au fond du vase. Soumis à l'examen microscopique, ils laissent voir des filaments nombreux, enchevêtrés, qui, suivant l'âge des organismes, sont pâles, mal définis ou colorés et à contours très nets, les uns réguliers, les autres déformés et présentant des renflements. Au milieu de ces éléments se trouvent des organes reproducteurs ou spores souvent isolés, quelquefois en forme de chaînes, chaînons.

Les bactéries se rencontrent quelquefois dans les eaux distillées et surtout dans l'eau ordinaire ; les unes appartiennent aux Leptothrix, les autres aux micrococcus et genres voisins. Certaines de ces bactéries sont chromogènes. Une remarque que j'ai faite, c'est que ces bactéries colorées ne se rencontrent que dans des solutions exposées à la lumière. Ces bactéries chromogènes, soumises à l'examen microscopique, sont constitutées par un amas de granulations confuses, sous la forme de cellules très petites, de couleur plus ou moins jaunâtre, de forme plus ou moins globulaire, privées de mouvement, dont quelques-unes étaient solitaires, mais la plupart réunies en zooglœa. Ces bactéries constituent l'espèce connue sous le nom de *Micrococcus luteus* (Cohn) ou *Bacterium luteum* (Schrœder).

Les algues proprement dites sont assez rares dans les

solutions préparées avec les eaux distillées, tandis qu'elles sont très abondantes si on emploie l'eau ordinaire, même filtrée. Les formes les plus répandues de ces algues ont été, sans preuves, attribuées aux genres *Protococcus*, *Hœmatococcus*, *Coccochloris*. Ces algues ne se développent, comme les bactéries chromogènes, que sous l'influence de la lumière.

Les champignons se développent rapidement dans les solutions à réaction acide, tandis que les bactéries proprement dites se développent dans un milieu alcalin. Il arrive parfois qu'on rencontre l'un et l'autre dans une solution. On explique ce résultat par l'emploi d'un alcaloïde contenant un excès d'acidité favorable au développement des champignons, mais non des bactéries. Il peut arriver un moment que cette acidité par suite du développement des champignons devienne si faible, qu'elle n'est plus incompatible avec la vie des bactéries. Si, plus tard, la réaction acide de la solution change et tend à devenir alcaline, ces bactéries s'y développent en grand nombre, et on peut constater qu'une solution qui contenait primitivement des champignons se remplit alors de végétations nouvelles dues à des bactéries. Ces résultats expliquent la prédominance des champignons ou des bactéries dans les solutions d'atropine, prédominance que j'ai toujours constatée, et qui se trouve liée intimément à la réaction alcaline ou acide de ces solutions.

EMPLOI DU BICHLORURE DE MERCURE

C'est l'antiseptique par excellence, le seul qui, convenablement employé, donne des résultats réellement heureux. Il répond complètement aux trois desiderata énoncés dans l'introduction : sa puissance d'action est réelle, son emploi et sa pratique sont faciles. Cette substance s'emploie couramment à la dose de $^{1}/_{1000}$ et de $^{0,50}/_{1000}$. La dose maxima employée dans mes expériences est de $^{1}/_{1000}$ et la dose minima est de $^{0,05}/_{1000}$.

D'après des expériences de Davaine, une solution de $HgCl^2$ à $^{0,25}/_{1000}$ tue toutes les spores en quelques heures, et celle à $^{1}/_{1000}$ les tue en quelques minutes, et empêche tout développement. Mes expériences personnelles concordent avec celles de l'auteur que je viens de citer pour les solutions de $HgCl^2$ à $^{1}/_{1000}$ et de $^{0,50}/_{1000}$; mais pour celles à $^{0,25}/_{1000}$, des végétations se sont développées après 10 jours, ce qui est tout de même un résultat assez satisfaisant pour la pratique.

Les solutions qui ont été préparées portent les N^{os} 2, 3, 4, 5 et 6, et toutes contiennent 0,10 centigr. sulfate neutre d'atropine avec 10 gr. eau distillée.

Le N° 2 contient 1 gramme pour 1000 $HgCl^2$
— 3 — 0,50 cent. —
— 4 — 0,25 —
— 5 — 0,10 —
— 6 — 0,05 —

Le flacon N° 1, qui contient une solution d'atropine sans

Hg Cl^2, a donné des résultats tout à fait négatifs au point de vue de sa conservation, car, après douze heures de préparation, des végétations s'étaient produites; cultivées dans des tubes contenant de la gélatine peptonisée, elles ont produit des moisissures en assez grande quantité.

Les résultats ont été résumés sous la forme d'un tableau. La colonne de gauche et verticale représente les numéros des flacons, la ligne horizontale est divisée en jours avec la date des phénomènes obtenus, et les résultats sont marqués des signes — et +. Le signe — indique la conservation et le signe + l'apparition des microorganismes. Ce tableau sera reproduit sous la même forme pour toutes les solutions contenant l'antiseptique employé.

N° des flacons	Après 1 jour	2	5	8	10	15	30	
2	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	—	?
4	—	—	—	—	+			
5	—	—	+					
6	—	+						

EMPLOI DE L'ACIDE PHÉNIQUE

Ce corps important a été découvert par Rünge et étudié par Laurent. Le nom de *Phénol* lui a été donné par Berthelot et adopté depuis par tous les chimistes. C'est le type d'une classe de corps voisins des alcools, mais présentant toutefois des propriétés spéciales, en sorte qu'on dit couramment un *phénol*, comme on dit: un *alcool*, un *éther*, un *acide*.

Le phénol a pour formule C^6H^6O, et s'obtient par synthèse. On peut le préparer par l'action de la potasse caustique sur l'acide benzino-sulfurique (Wurtz, Dusart, Kekulé); ou encore au moyen de l'acide oxybenzoïque que l'on décompose par un alcali. Toutes ces formations synthétiques sont effectuées à partir de la benzine. C'est principalement du goudron extrait de la houille que l'on retire l'acide phénique. Il existe plusieurs phénols dans le commerce, plus ou moins purs. Les uns contiennent du crésylol, du naphtylol. Il est plus ou moins cristallisé, plus ou moins blanc; ordinairement, le phénol employé est solide, incolore, en longues aiguilles, fusible à la température de 42°, quand il est pur; son point de fusion est +35°. Sa densité est égale à 1,081 à 0°. Son odeur est caractéristique, sa saveur brûlante. La solubilité de l'acide phénique dans l'eau est à +15° d'environ 5/100. Elle est plus que suffisante aux applications de ce produit comme antiseptique. Il est très soluble dans l'alcool, dans la glycérine, l'acide acétique, etc. Dans la pratique thérapeutique, on l'em-

ploie comme désinfectant et comme un puissant antiseptique. Il empêche le développement des organismes inférieurs. A la dose de $^{5}/_{100}$, non seulement toutes les bactéries sont détruites, mais encore les spores, dont la vitalité est plus tenace.

Les essais pratiqués portent les N^{os} 7, 8, 9, 10 et 11.

Ils contiennent les titres suivants :

N^{os} 7 5 p. 100 acide phénique.
— 8 2,5 100 —
— 9 1/100 —
— 10 0,50/100 —
— 11 0,10/100 —

les résultats sont les suivants :

N^{os} des flacons	Après 1 jour	2	5	8	10	15	30	
7	—	—	—	—	—	—	—	?
8	—	—	—	—	+			
9	—	—	—	+	+			
10	+							
11	+							

Le N° 7 s'est conservé intact et, mis en culture dans du bouillon après 15 jours, a encore donné un résultat négatif. Le N° 8 a vu apparaître le développement des moisissures au 7^{e}

jour. Le N° 9 ne s'est conservé à peine que vingt-quatre heures. Quant aux N^{os} 10 et 11, les résultats ont été négatifs.

Le N° 7, appliqué sur l'œil, produisit une action styptique prononcée, indépendante de son rôle antiseptique et désinfectant.

EMPLOI DE LA RÉSORCINE

La résorcine C^{12} H^6 O^4 est un phénol diatomique, homologue de l'orcine, isomère de la pyrocatéchine et de l'hydroquinone. Elle fut découverte en 1860 par Hlasivetz et Barth de Vienne, et fut étudiée spécialement par Kœrner, Oppenheim et G. Vogt, par Dujardin-Beaumetz, Hipp. Callias, Audhoui, etc. Cette substance possède des propriétés antiseptiques réelles qui, vu sa constitution chimique, la rapprochent de l'acide phénique, qu'elle peut remplacer pour l'usage externe dans des cas nombreux.

La résorcine a été préparée primitivemeut en fondant du galbanum avec de la potasse caustique; on a employé aussi pour sa préparation l'assa fœtida, le sagapenum, la gomme ammoniaque. Plus tard, Kœrner l'a obtenue par synthèse en fondant du paraiodophénol avec la potasse; Oppenheim et G. Vogt à l'aide de l'acide chloroxyphénylsulfureux. Enfin, Mounet de Genève arrive à la préparation d'un produit chimiquement pur en se basant sur la méthode générale indiquée par Wurtz pour la préparation du phénol; l'opération comprend quatre manipulations: préparation du phényldisulfite de sodium; fusion de ce sel avec la potasse; traitement par l'éther, lequel, évaporé au bain-marie, laisse un résidu solide; purification par sublimation et lavage des cristaux par la benzine pure. Tel est le mode de préparation suivi actuellement.

Elle cristallise en aiguilles fines et longues, d'un blanc éclatant, ne se colorant pas à l'air et à la lumière, contrairement à ce que font certaines variétés que l'on rencontre dans le commerce. Elle possède une odeur faible, rappelant de loin l'odeur de l'acide phénique, une saveur un peu sucrée, aromatique devenant amère ; elle doit être neutre aux réactifs colorés ; elle est fusible à + 99° et bout à +270° et se sublime vers + 300° ; elle est très soluble dans l'eau, l'alcool, l'éther, la glycérine, la vaseline et insoluble dans le chloroforme et le sulfure de carbone. Elle possède une phosphorescence assez marquée, donne des dérivés nombreux avec le chlore, le brome, l'iode, l'acide azotique.

La résorcine possède la propriété d'empêcher la fermentation et la putréfaction, d'après des expériences faites par MM. Dujardin-Beaumetz et Hipp. Callias. Brieger a constaté qu'ajoutée dans la proportion de $^1/_{100}$ à des substances susceptibles de subir les fermentations alcoolique, butyrique et lactique, non seulement elle empêche l'apparition, mais arrête l'évolution de ces phénomènes quand elle est commencée, et en entrave définitivement le développement, c'est-à-dire qu'elle agit sur les ferments figurés de façon à détruire leur pouvoir de reproduction aussi bien que leur existence.

De cet ensemble de faits, il résulterait que c'est un puissant antifermentescible et par suite un antiseptique. Ces propriétés antifermentescibles et antiseptiques de la résorcine la classent à côté de l'acide phénique et des autres benzols et suffisent à lui faire prendre un rang dans les essais que j'ai entrepris pour la conservation des solutions d'atropine.

Les essais portent les N^{os} 12, 13, 14, 15 et 16, et contiennent en résorcine la teneur suivante :

N^os 12 = 10 pour mille
13 = 5 —
14 = 2 —
15 = 1 —
16 = 0,50 —

N^os des flacons	Après 1 jour	2	5	8	10	15	30	
12	—	—	—	—	—	—	+	
13	—	—	—	+				
14	—	+						
15	—?	+						
16	+							

Les N^os 15 et 16 ont donné naissance à des végétations d'un caractère spécial. Au lieu d'une moisissure, comme dans les essais précédents, il se produisit, dans l'intérieur du tube et au-dessous de la surface horizontale de la gélatine, une couronne blanchâtre, et en dessous de cette couronne, épaisse de 2 millimètres, des végétations en forme de points d'interrogation renversés ou mieux de crochets. *Ces végétations ne pouvaient être dues qu'à des bactéries.*

Du reste, pour assurer ma religion à cet égard, le 23 juin, j'inoculais, avec un couteau flambé, à la base de la queue, deux souris; huit jours après, il survint un bouton dur et blanchâtre. Le 4 juillet, je renouvelais l'inoculation, mais, cette fois, sur la paupière supérieure droite d'un lapin; dix jours après, des granulations blanc-grisâtres, dures, grosses comme des grains de millet, s'étaient déclarées au siège de la piqûre.

De ces granulations, je refis une culture dans des tubes de gélatine. Après vingt-quatre heures, même apparition de ces bactéries avec liquéfaction complète de la gélatine après quarante-huit heures. Ces bactéries étaient des coccus, et probablement un diplococcus(?), car ces bactéries se comportaient avec les matières colorantes comme le diplococcus.

Cette bactérie n'avait pas encore été étudiée jusqu'à ce jour; je n'ai rien pu trouver, à cet égard, malgré les recherches que j'ai faites dans les auteurs s'occupant spécialement de bactériologie. J'ai remarqué ceci de particulier, c'est que la couronne était composée de champignons, et les crochets de bactéries, ce qui corroberait ce que j'ai énoncé plus haut, c'est qu'on peut rencontrer, dans une solution, des bactéries et des champignons.

On peut juger, par ces quelques expériences que j'ai faites avec ces solutions, des dangers que court le malade dans l'emploi d'un collyre ainsi contaminé et non antiseptique.

DE L'EMPLOI DU THYMOL

Le thymol ou acide thymique est retiré en grande partie de l'essence de thym, formée par le mélange de deux hydrocarbures, le thymène $C^{10}H^{16}$, le cymène $C^{10}H^{14}$, et d'un phénol constituant le thymol ou acide thymique $C^{10}H^{14}O$.

Ce phénol constitue environ la moitié de l'essence de thym au sein de laquelle il se dépose quelquefois spontanément, surtout par l'effet d'un refroidissement prolongé, sous la forme de prismes obliques assez volumineux. Mais on peut l'obtenir assez facilement et débarrassé de ses hydrocarbures, en agitant l'essence avec une solution moyennement concentrée de soude ou de potasse caustique, séparant par décantation les hydrocarbures qui surnagent en décomposant ensuite le thymate alcalin par l'acide tartrique ou l'acide chlorhydrique en léger excès. Le thymol liquide qui se sépare ne tarde pas à se solidifier. On le purifie par compression et par cristallisation dans l'alcool. Il se présente alors sous la forme de tables rhomboïdales transparentes. Il exhale une odeur douce qui rappelle celle du thym et possède une saveur piquante et poivrée. La solubilité dans l'eau est très faible, à peine 7 pour mille. Il se dissout facilement dans l'alcool, l'éther et l'acide acétique concentré ; la solution alcoolique ne précipite pas par l'eau.

Comme l'acide phénique, le thymol possède des propriétés antiseptiques, mais peu énergiques, étant donnée sa faible

solubilité dans l'eau. Il pourrait remplacer l'acide phénique dans certains emplois où la présence de l'alcool n'offre aucune gêne, et sur lequel il offre l'avantage de posséder une odeur presque agréable.

Les solutions portent les N^os^ 17, 18, 19, 20, 21. Ces solutions ont été préparées d'abord avec un sulfate d'atropine de fabrication étrangère, et quelque temps après avec, un sulfate d'atropine sous cachet Miahle; elles portent les N^os^ 17 *bis*, 18'', 19'', 20'' et 21''. Ces deux essais m'ont donné des résultats assez curieux.

1^re^ Expérience

N^os^ des flacons	Après 1 jour	2	5	8	10	15	30	
17	—	—	—	+				
18	—	+						
19	+							
20	+							
21	+							

2me Expérience

N°s des flacons	Après 1 jour	2	5	8	10	15	30	
17 "	—	—	—		—	—	+	
18 "	—	—	—	—	+			
19 "	—	—	—	+				
20 "	—	+						
21 "	+							

On remarquera que ces deux expériences ont été faites à deux reprises différentes en employant des alcaloïdes d'origine diverse, l'une de fabrication allemande, l'autre française. Les deux alcaloïdes se ressemblaient physiquement, mais leur solubilité dans l'eau n'était pas la même. L'alcaloïde sous cachet du Dr Miahle était soluble immédiatement et complètement, tandis que l'alcaloïde sous cachet du Dr Schuchart était soluble lentement et après une agitation prolongée. L'alcaloïde de Miahle est légèrement acide, l'alcaloïde allemand est basique, d'où peut-être le développement des bactéries constaté dans les premiers essais. L'alcaloïde de Miahle avec quelques gouttes de teinture de tournesol, a donné naissance à une coloration pelure d'oignon très légère, tandis que l'alcaloïde allemand n'a donné aucun résultat. Tous les deux dilatent rapidement la pupille.

Les tableaux précédents montrent que le N° 17 à $^{5}/_{1000}$ ne s'est conservé que 5 jours, tandis que le N° 17'' à 10 $^{0}/_{00}$ s'est conservé plus de 20 jours ; que le N° 18, qui correspond au N° 17 (1er essai), s'est conservé 15 jours. Je ferai observer que la solubilité du thymol dans l'eau n'est que de 6 à $^{7}/_{1000}$ et que pour obtenir une solution à $^{10}/_{1000}$, j'ai employé l'eau bouillante et environ 2 c.c. d'alcool. L'emploi de l'alcool à cette dose n'offre aucun inconvénient.

EMPLOI DU VIOLET DE MÉTHYLE OU PYOCTANINE

Il existe dans l'industrie une grande quantité de violets de méthyle très différents de constitution et d'effet. Beaucoup d'entre eux contiennent de l'arsenic et du phénol, et peuvent produire des phénomènes d'irritation assez sérieux, voire même d'intoxication dangereux; tandis que les substances pures, telles que celles qui sont livrées par Meck et Poirrier, produisent tout au plus une légère et passagère irritation, lorsqu'on les applique sur les muqueuses.

Les auteurs ne sont pas tous d'accord sur leur composition chimique réelle. D'après Liebreich, ce ne serait pas une substance définie, mais un mélange de différentes couleurs dérivant de l'aniline : (*méthyl*, *tétra*, *penta-para*, *hexa-méthyl para — rosaniline, violet de méthyle benzylé*, *etc.*, *etc.*) Ainsi s'expliquent sans doute, par la non identité de produits des diverses fabriques, les résultats contradictoires obtenus.

Je ne me suis servi pour mes expériences que du violet de méthyle de Merck, connu sous le nom de *pyoctanine violette*, et du violet de méthyle de Poirrier.

Le nom de pyoctanine (de πυον pus et de κτεινω je tue) a été donné au violet de méthyle de Merck, par Stilling, qui, le premier, a démontré son action sur les éléments pyogènes. D'après ce savant, une solution à $^1/_{1000}$ aurait la propriété d'arrêter le développement, mais non de déterminer la mort de tous les microbes. Il résulterait, en outre, d'expériences

suivies de Janicke et d'autres cliniciens, que la pyoctanine exercerait une action presque aussi énergique que le bichlorure de mercure sur les principaux microbes, sur les grégarines et notamment sur ceux de la suppuration (staphylococcus, streptococcus, etc.). J'ai essayé l'action de la pyoctanine dans les solutions d'atropine, et j'ai essayé de déterminer si, comme l'affirme M. Grandhomme, son pouvoir bactéricide est aussi énergique que celui du sublimé. Voici les résultats acquis pour des solutions portant les numéros :

22 pyoctanine $^{5}/_{1000}$
23 — $^{2}/_{1000}$
24 — $^{1}/_{1000}$
25 — $^{0.50}/_{1000}$
26 — $^{0.10}/_{1000}$

N^os^ des flacons	Après 1 jour	2	5	8	10	15	30	
22	—	—	—	—	—	—	+	
23	—	—	—	—	+			
24	—	—	+					
25	—	+						
26								

La solution N° 22 aurait donné quelques résultats satisfaisants, si ce n'était sa coloration trop intense, car c'est celle qui, cultivée sur gélatine, n'a produit un développement de moisissures qu'après dix-neuf jours d'ensemencement. Ce développement s'est manifesté par un trouble léger, et est resté stationnaire. Il semble aussi que la pyoctanine de Merck, en solution à 5/1000, retarderait pour un temps assez long le développement de végétations.

En résumé, la pyoctanine n'a pas suffisamment fait ses preuves comme antiseptique pouvant remplacer le sublimé; mais comme son action est peu caustique, il y a lieu de l'associer au sublimé dans les solutions d'atropine que l'on veut colorer, dans la proportion de 0,10, 0,05 centigr. pour 100. C'est aux médecins à juger les cas dans lesquels cette addition au sulfate d'atropine doit être prescrite.

DE L'EMPLOI DE LA CRÉOLINE

Parmi les nombreux antiseptiques découverts dans ces dernières années, la *Créoline* mérite d'être signalée d'une façon spéciale. Cette substance a été expérimentée, d'abord en Angleterre, puis en Allemagne et en dernier lieu en France. Ce produit a été primitivement employé comme désinfectant et surtout comme médicament vétérinaire. En juillet 1887, il fut importé en Allemagne, où il fut considéré comme un antiseptique précieux, énergique, présentant le double avantage d'être peu coûteux et sans danger pour l'économie.

La créoline est un liquide de consistance sirupeuse, brun-rouge foncé, répandant une forte odeur de goudron. Mais, contrairement à ce qui a lieu pour l'acide phénique et l'iodoforme, cette odeur se dissipe rapidement et ne laisse pas persister sur les vêtements et sur les mains d'odeur désagréable. La créoline est miscible à l'eau, l'alcool, la glycérine et l'huile en toutes proportions. Mêlée à l'eau, elle donne une émulsion blanche laiteuse, tirant un peu sur le jaune; celle-ci, abandonnée pendant quelque temps à elle-même, devient brunâtre, et finalement, il s'en sépare des particules brunes et résineuses. Une simple agitation au moment de s'en servir lui rend ses propriétés et son aspect laiteux.

On n'est pas absolument fixé sur la nature de la créoline. Ce produit paraît être obtenu par la distillation sèche des huiles lourdes de goudron de houille, après addition de résine

et de soude caustique. D'après les analyses publiées relativement à ce produit, la créoline renfermerait 66 o/o d'hydrocarbures indifférents, 27 à 28 o/o de phénols, 2 o/o de bases organiques et 4 à 5 o/o de cendres.

Quoi qu'il en soit, la composition de la créoline est assez constante ; mais les divers principes qu'elle paraît contenir sont loin de se ressembler au point de vue de l'action antiseptique ; la houille renferme, indépendamment de l'acide phénique, d'autres substances qui, tout en jouissant de propriétés antiseptiques, sont dépourvues d'action toxique et peuvent être absorbées impunément par l'organisme.

Fröhner a constaté qu'une solution à 3 o/o employée comme antiseptique a une action aussi énergique qu'une solution d'acide phénique à 3 o/o et qu'une solution de $HgCl^2$ à $^1/_{1000}$.

D'après ce savant expérimentateur, la créoline possède la même action antiseptique et désinfectante que le bichlorure de mercure et l'acide phénique et, de plus, elle a l'avantage d'être volatile et exempte d'effets toxiques.

Esmarch a fait, sur la même substance, des expériences intéressantes. Il a constaté que dans un liquide contenant $^1/_{1000}$ de créoline, les bacilles du choléra sont détruits en dix minutes, tandis que dans une solution d'acide phénique à $^1/_{1000}$, la destruction des bacilles n'est pas effectuée complètement au bout de quarante-huit heures. Le seul reproche que fait Esmarch à la créoline, c'est que sa composition n'est pas constante.

Pour mes expériences, je n'ai employé que la créoline Pearson, dont la composition est presque toujours fixe.

Les essais portent les N^{os} 27, 28, 29, 30 et 31, et ont la teneur suivante :

N^{os} 27	=	5 o/o	créoline
28	=	2,5 o/o	—
29	=	1 o/o	—
30	=	0,50 o/o	—
31	=	0,10 o/o	—

N^{os} des flacons	Après 1 jour	2	5	8	10	15	30	
27	—	—	—	—	—	+		
28	—	—	—	+				
29	—	—	+					
30	—	+						
31	+							

EMPLOI DE L'ACIDE SALICYLIQUE

L'acide salicylique, primitivement extrait de la salicine par Pirier, n'a pris une grande place comme antiseptique et antifermentescible qu'en 1874. On le représente comme un succédané commode de l'acide phénique. Ce produit a été employé, avec un succès relatif, pour la conservation des substances alimentaires; mais devant certains accidents provoqués par son usage, celui-ci a été interdit.

Un des premiers faits relatifs à son action antifermentescible a été signalé par Kolbe, peu de temps après le début de ses recherches sur l'acide salicylique. Il a constaté que ce corps s'oppose à l'action de l'émulsine sur l'amygdaline, à la fermentation du sucre de raisin.

Neubauer a remarqué qu'au contact de la levure de bière, l'acide salicylique s'oppose au développement des champignons, même si la fermentation est commencée; que cette substance retarde la décomposition des matières animales et s'oppose aussi, au moins temporairement, à la putréfaction de l'urine.

Les travaux de J. Muller, de Knop, Manetti, Bucholtz, ont fait admettre bientôt que ce corps possède l'importante propriété de neutraliser les ferments ; Zurg a reconnu l'action de l'acide salicylique sur le développement des bactéries, des

infusoires, mais en comparant son action avec celle obtenue avec l'acide phénique. De ces nombreuses expériences, il conclut que l'acide salicylique est beaucoup moins actif. De son côté, Salkovski l'a classé même après l'acide benzoïque ; Gübler, qui lui a reconnu également son action antifermentescible, l'a placé sur le même rang que l'acide benzoïque et que l'acide succinique. De nombreuses applications nouvelles ont été aussitôt proposées, car si l'acide salicylique a une action moindre que celle de l'acide phénique, son emploi est plus pratique, à cause de l'absence d'odeur et de ses propriétés physiologiques moins dangereuses que celles des préparations phéniquées.

Du reste, en jetant un coup d'œil sur le tableau ci-contre, on verra que l'action antiseptique de l'acide salicylique comme antiseptique et antifermentescible est inférieure, à celle de l'acide phénique. Les solutions portent :

Les N^{os}	32	à 5 o/o acide salicylique.
	33	2,50 o/o —
	34	1 o/o —
	35	0,50 c. —
	36	0,10 c. —

Nos des flacons	Après 1 jour	2	5	8	10	15	30	
32	—	—	—	—	+			
33	—	—	+					
34	—	+						
35	+							
36	+							

En résumé, comme il est facile de le constater par les résultats obtenus, l'action de l'acide salicylique est beaucoup moindre que celle de l'acide phénique, car l'apparition des champignons s'est produite, pour le N° 32, entre le 8e et le 10e jour, tandis que dans la solution N° 8, dont le titre en acide phénique est le même, après 30 jours de culture, rien ne s'est développé.

Qu'il me soit permis de soumettre une appréciation toute personnelle, c'est que l'acide phénique jouit de propriétés antiseptiques, antifermentescibles et désinfectantes générales, tandis que l'acide salicylique n'exercerait son action que sur certains ferments seulement, et surtout sur les ferments figurés.

DE L'EMPLOI DE LA GLYCÉRINE

La glycérine (hydrate d'oxyde de glycérile) a été longtemps connue sous le nom de *principe doux des huiles*. C'est Chevreul, en 1813, qui lui a donné le nom qu'elle porte. La glycérine jouit de propriétés dissolvantes précieuses ; aussi, son emploi dans la thérapeutique s'est-il considérablement augmenté. La propriété qu'elle possède de n'être pas siccative la fait employer avec avantage. Elle peut remplacer l'alcool, unie à l'acide phénique, pour la conservation des pièces zoologiques ou anatomiques.

A l'hôpital Saint-Louis, Demarquay l'a employée avec succès contre les plaies gangréneuses, les anthrax, etc., etc. Quelques expérimentateurs, pour augmenter les propriétés antiseptiques de la glycérine, l'ont associée au goudron, à la créosote, au phénol ; j'ai remarqué qu'employée seule, elle est suffisante ; car dans des solutions d'atropine, j'ai introduit des staphylococcus, et à la dose de 33 o/o de glycérine chimiquement pure, le développement n'a commencé qu'au 8e jour.

La glycérine pure, en application sur la peau, détermine une sensation de froid, due à ses propriétés hygrométriques, et en application sur les muqueuses, une sensation de cuisson, d'ardeur, suivie bientôt d'une certaine rougeur, surtout si sur ces muqueuses il y a une érosion, une déchirure. Ces phénomènes ont surtout lieu lorsque la glycérine est portée sur des muqueuses douées d'une plus grande sensibilité, telles que celles des paupières ; mais toutes ces sensations ne la rendent point intolérable, car elle n'exerce sur la conjonctive aucune action caustique.

Le sulfate d'atropine est soluble dans la glycérine en toute proportion. Les solutions portent les N^os^ 37, 38, 39, 40 et 41. et les lettres A, B, C, D, F. Elles contiennent les quantités de glycérine suivantes :

N^os^ 37 ou les lettres A = 50 o/o.
38 — B = 33 —
39 — C = 25 —
40 — D = 10 —
41 — F = 5 —

Les solutions A, B, C, D, E, F, contiennent des staphylococcus albus, tandis que les N^os^ 37, 38, 39, 40, 41, n'en ont pas. Les résultats ont été consignés dans les tableaux suivants :

Sans Staphylococcus.

N^os^ des flacons	Après 1 jour	2	5	8	10	15	30	
37	—	—	—	—	—	—	—	
38	—	—	—	—	—	—	—	
39	—	—	—	—	—	— ?	+	
40	—	—	—	+				
41	—	+						

Avec Staphylococcus.

Lettres des flacons	Après 1 jour	2	5	8	10	15	30	
A	—	—	—	—	—	—		
B	—	—	—	—	—	+		
C	—	—	—	+				
D	—	—	+					
E	+							

En résumé, la glycérine est un bon antiseptique, car, d'après les tableaux, les N^{os} 37 et 38 se sont conservés plus de 30 jours, surtout le N° 37 qui s'est maintenu indemne au delà même de 60 jours. Quant à la solution A, malgré l'addition de staphylococcus, elle s'est bien conservée ; la solution B, à 33 °/$_{o}$, ne s'est conservée que 15 jours, ce qui est un résultat satisfaisant, étant donné que ces solutions ont été préparées pendant l'été.

Je terminerai toutes ces expériences par un tableau récapitulatif général, et j'en déduirai les conclusions en peu de mots. Par ce tableau général, on pourra se rendre un compte exact de la valeur antiseptique des divers produits qui ont servi à mes essais.

LISTE DES PRÉPARATIONS

Acide azotique pur.

Phosphure de calcium.

Ether oxalique.

Acide cyanhydrique officinal.

Eau de laurier-cerise.

Liniment de Rosen.

Tannate de quinine.

Sel de seignette.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

Annalen der chimie.— Justus Liebig. Leipzig et Heidelberg.

Annales d'oculistique du Dr Warlomont.— Bruxelles.

Archiv der Pharmacie.— Berlin 1889-90-91.

British medical Journal.— 1888-1890.

Bulletin général de thérapeutique médicale, chirurgicale, obstétricale et pharmaceutique.— Paris 1889-90-91.

Chemist et Druggist.— The London 1890.

Fortschritte der Medicin.— Berlin 1889-1891.

Journal de pharmacie et de chimie.— Paris 1888-1891.

Merck's E. Jahresbericht.— Dernasterd.

New-York medical Journal.

Les nouveaux remèdes.— Paris 1888-91.

Osservatore (l'). — Torino 1889.

Pharmazeutische Zeitung.— Berlin 1889-90.

Pohl W. Ueber Pyoctanin als antisepticum.— Inaugural dissertation. Fleusburg 1890.

Progrès médical.— Paris 1889-91)

Répertoire de pharmacie.— Paris 1889-91.

Stilling y prof.— Analin farbstaffe als anseptica d. ihre Aswendung in der Proxis. I Mittheilung, Strasbourg 1890. II Mittheilung, Strasbourg 1890.

Wiener medicinische Presse.— Wien 1886-91.

Zeitchrift für Hygiene.— Wien 1885-91.

Traité pratique d'antisepsie, par Legendre, Barette et Lepage.

Petite chirurgie de Chanas.— 1889-90.

Annales des sciences naturelles.— Physiologie des Mucédinées 1867, par Van Tiéghem, p. 210-245.

Thèse de doctorat ès sciences. — Paris 1870, par Raulin, sur l'Aspergillus niger.

M. Miquel.— Bulletin de la Société chimique 1878, p. 390.

Pedrazolli M.— I colori di anilina come antisettici, Pavia 1890.

Semaine médicale 1889, p. 47. — M. Van Semengen. Recherches expérimentales sur la Créoline.

Semaine médicale 1888.— De la créoline, par M. le prof. Alb. Heidenreich.

M. Mazet.— Asepsie et antisepsie. Thèse de Lyon 1888.

M. Leconte Marcel.— Résorcine en médecine. Thèse de Paris 1888.

Semaine médicale 1883.— Sur la Résorcine, p. 59 et 72.

Callias Hipp.— De la résorcine et de son emploi thérapeutique. Thèse de Paris 1881, N° 224.

Dujardin-Beaumetz.— Bulletin général de thérapeutique 1881.

Lemaire Jules. — De l'acide phénique, de son action sur les végétaux, les animaux, les ferments, les venins, les virus, les miasmes, et de ses applications à l'hygiène, à la thérapeutique, Paris 1865.

Wurtz.— Dictionnaire de chimie, t. II, 2e partie, p. 1327.

Bulletin de la Société de chimie 1867-68-73.

Journal de pharmacie 1881.— Mémoire du prof. Vulpian.

Rapport de Dubrisay au comité consultatif d'hygiène 1880.— Recueil des travaux du comité, t. x,

Rapport sur l'emploi de l'acide salicylique pour la conservation des substances alimentaires.— Imprimerie Chaix.

Thèses de Monier, Benoit, Mussy, Fromentin.— 1877 à 1882.

Chevreul.— Recherches sur les corps gras, Paris 1823.

Pelouze.— Mémoire sur la glycérine (Annales de physique et de chimie, t. LXIII ; et Comptes rendus de l'Acad. des sciences, t. XXI.)

Deschamps d'Avallon. — Note sur la glycérine (Bullet. de l'Acad. de médecine 1855-56, t. XXI).

Cap.— Mémoire sur la glycérine et ses applications (Bulletin de l'Acad. de médec. 1853-56, t. XIX ; et Journal de pharmacie, 3e série, t. XXV).

Cap et Garot.— Mémoire sur la glycérine et ses applications, Paris 1854.

Wurtz.— Sur la formation artificielle de la glycérine (Comptes rendus de l'Acad. des sciences, t. LXIII et XLIV).

Demarquay. — Note sur les avantages du pansement des plaies par la glycérine (Bullet. de l'Acad. de médecine, Paris 1855-56, t. XXI).

CONCLUSIONS

De tous les antiseptiques étudiés dans ce travail, deux seulement ont été reconnus aptes au but que je poursuivais. Ce sont : le bichlorure de mercure et la glycérine. Cette dernière, à cause de sa haute densité, est difficilement maniable au compte-gouttes à l'état pur, seule condition assurant une conservation indéfinie. Il ne reste donc que le bichlorure de mercure. M. le Dr Nicati l'emploie au titre de 0,50 centigr. pour mille et le colore, afin de rendre cette solution parfaitement reconnaissable, par le violet de méthyle, à la dose de 0,10 centigr. pour mille. Cette solution, ainsi préparée, n'exerce sur l'organe aucun effet irritant et paraît se conserver indéfiniement à l'abri de toute contamination. Employée après une opération, elle offre l'avantage d'être par elle-même un puissant antiseptique.

FIN.

Vu et permis d'imprimer :
Montpellier, le 4 décembre 1891.
Le Recteur de l'Académie,
J. GÉRARD.

Vu :
Montpellier, le 4 décembre 1891
Le *Directeur*,
J.-E. DIACON.

Tableau général

Substances employées	Numéros des solutions	Titre des solutions	Après 1 jour	2	5	8	10	15	30
0	1	0	+						
Hg Cl²	2	1 °/₀₀	—	—	—	—	—	—	—
	3	0,50 °/₀₀	—	—	—	—	—	—	—?
	4	0,25 °/₀₀	—	—	—	—	+		
	5	0,10 °/₀₀	—	—	+				
	6	0,05 °/₀₀	—	+					
Acide Phénique	7	50 °/₀₀	—	—	—	—	—	—	—
	8	25 °/₀₀	—	—	—	—	+		
	9	10 °/₀₀	—	—	+				
	10	5 °/₀₀	—	+					
	11	1 °/₀₀	+						
Résorcine	12	10 °/₀₀	—	—	—	—	—	—	+
	13	5 °/₀₀	—	—	—	+			
	14	2 °/₀₀	—	+					
	15	1 °/₀₀	—?	+					
	16	0,50 °/₀₀	+						
Thymol	17	10 °/₀₀	—	—	—	—	—	—	+
	18	5 °/₀₀	—	—	—	—	+		
	19	2 °/₀₀	—	—	—	+			
	20	1 °/₀₀	—	+					
	21	0,50 °/₀₀	+						
Pyoctanine	22	5 °/₀₀	—	—	—	—	—	—	+?
	23	2 °/₀₀	—	—	—	—	+		
	24	1 °/₀₀	—	—	+				
	25	0,50 °/₀₀	—	+					
	26	0,10 °/₀₀	+						
Créoline	27	50 °/₀₀	—	—	—	—	+		
	28	25 °/₀₀	—	—	—	+			
	29	10 °/₀₀	—	—	+				
	30	5 °/₀₀	—	+					
	31	1 °/₀₀	+						

Tableau général (*Suite*).

Substances employées	Numéros des solutions	Titre des solutions	Après 1 jour	2	5	8	10	15	30
Acide Salicylique	32	50 °/₀₀	—	—	—	—	+		
	33	25 °/₀₀	—	—	+				
	34	10 °/₀₀	—	+					
	35	5 °/₀₀	+						
	36	1 °/₀₀	+						
Glycérine sans Staphylococcus	37	50 °/₀	—	—	—	—	—	—	—
	38	37 °/₀	—	—	—	—	—	—	—
	39	25 °/₀	—	—	—	—	—	—?	+
	40	10 °/₀	—	—	—	+			
	41	5 °/₀	—	+					
Glycérine avec Staphylococcus	A	50 °/₀	—	—	—	—	—	—	—
	B	37 °/₀	—	—	—	—	—	+	
	C	25 °/₀	—	—	—	—	+		
	D	10 °/₀	—	—	—	+			
	E	5 °/₀	—	+					